



**UNILASALLE**  
CENTRO UNIVERSITÁRIO LA SALLE



VANESSA LAGUE MATTE

**EFEITO DA AÇÃO DE AGROQUÍMICOS E DO ESTRESSE SOBRE O  
METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DE JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*)**

CANOAS, 2013

VANESSA LAGUE MATTE

**EFEITO DA AÇÃO DE AGROQUÍMICOS E DO ESTRESSE SOBRE O  
METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DE JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*)**

Dissertação de mestrado apresentada para a banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Impactos Ambientais do Centro Universitário La Salle - UNILASALLE, como exigência para a obtenção do título de Mestra em Avaliação de Impactos Ambientais.

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Marqueze

CANOAS, 2013

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M213e Matte, Vanessa Lague.

Efeito de ação de agroquímicos e do estresse sobre o metabolismo de carboidratos de jundiás (*rhamdia quelen*) [manuscrito]. / Vanessa Lague Matte. – 2013.

44 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (mestrado em Avaliação de impactos ambientais) – Centro Universitário La Salle, Canoas, 2013.

“Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Marqueze”.

CDU: 504.06

Bibliotecário responsável: Melissa Rodrigues Martins - CRB 10/1380

VANESSA LAGUE MATTE

**EFEITO DA AÇÃO DE AGROQUÍMICOS E DO ESTRESSE SOBRE O  
METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DE JUNDIÁS (*Rhamdia quelen*)**

Dissertação de mestrado apresentada para a banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Impactos Ambientais do Centro Universitário La Salle - UNILASALLE, como exigência para a obtenção do título de Mestra em Avaliação de Impactos Ambientais.

Aprovado pela banca examinadora em 11 de julho de 2013.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Marqueze  
UNILASALLE

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Oliveira Rodrigues  
UNILASALLE

---

Prof. Dr. Leonardo J. G. Barcellos  
UPF

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Trapp  
UNILASALLE

*Mãe, acho que eu sempre fui seu projeto inacabado:  
Você cuidou e cuida de mim como se eu fosse uma  
eterna criança, eu cresci respeitando a natureza e o  
ser humano, deu-me amor sem fim, e eu aprendi a  
amar você; amparou-me nos primeiros passos e me  
fez sentir forte, estimulou-me a sorrir e eu conheci a  
felicidade, ensinou-me a falar e eu herdei o seu  
sotaque, deu-me a vida e me fez desejar viver.*

*Mãe, a minha vida é uma eterna homenagem a você!*

*(Adaptado de Luiz Carlos Segundo)*

*Ao meu amor Bruno da Silva Matte.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu esposo, que ilumina minha vida.

A minha família, que me faz ser a cada dia melhor.

A este fruto que trago no ventre, por participar dos últimos momentos deste trabalho.

A minha escola Jasmelino Jardim que me ensina a cada dia o que é ser professora.

A todos os professores do Unilasalle que contribuíram na minha formação.

A minha colega Cristina por todo carinho, cumplicidade e companheirismo.

Ao meu colega Matheus, por toda ajuda no laboratório de fisiologia.

A professora orientadora Alessandra, pela oportunidade, incentivo e eficiência.

A todos que contribuíram direta e indiretamente neste trabalho.

## RESUMO

Os agroquímicos contribuem para a poluição ambiental química dos recursos hídricos devido ao uso excessivo e indiscriminado. As maiorias das contaminações ocorrem com concentrações não letais, mas promovendo importante conjunto de alterações fisiológicas em peixes expostos a estes agroquímicos. O jundiá (*Rhamdia quelen*) é uma espécie de peixe nativo da região Sul e, atualmente, está distribuída pela América do Sul e Central, sendo considerado um bom bioindicador em diversos estudos na área ambiental. Este estudo teve como objetivo avaliar as alterações nas reservas de glicogênio hepático e muscular, lactato e glicose plasmática em jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à exposição aguda ao metil paration e ao tebuconazole. Os experimentos foram divididos em duas fases, de modo que a fase 1 avaliou o efeito agudo dos agroquímicos (96 h)  $CL_{50}$  e a fase 2 avaliou diferentes períodos de recuperação (45, 90, 135 e 180 dias) sobre o metabolismo dos carboidratos citados. Os peixes estudados (n= 6) foram divididos em diferentes grupos T1 (controle), T2 (agroquímico), T3 (agroquímico e estresse) e T4 (estresse) submetidos a diferentes condições de presença e ausência de agroquímicos e estresse. Amostras de fígado e músculo foram coletadas e analisadas as concentrações de glicogênio pelo método de Van Handel. As amostras de sangue coletado foram usadas para determinação de glicose e lactato sanguíneo. Nos animais expostos ao metil paration foram observados uma redução ( $p < 0,05$ ) do glicogênio hepático e muscular (T2 e T4) e glicose plasmática (T2, T3 T4). Já o lactato plasmático aumentou no T2 e T4 enquanto no T3 ocorreu uma redução. Durante os diferentes períodos de recuperação o glicogênio muscular e a glicose foram restabelecidos. Com o tebuconazole o glicogênio hepático e muscular, bem como, a glicose plasmática diminuiu. Porém, ocorreu um aumento do lactato. Na fase de recuperação somente o glicogênio hepático foi restabelecido. A partir destes resultados pode-se observar uma maior sensibilidade dos metabólitos plasmáticos ao efeito do agroquímico e do estresse.

**Palavras-chave:** Jundiá, *Rhamdia quelen*, metil paration, tebuconazole, agroquímico.

## ABSTRACT

Agrochemicals contribute to environmental pollution chemistry of water resources due to the excessive and indiscriminate use. The majority of contamination occurs concentrations not lethal, but promoting important set of changes physiological in fish exposed to these pesticides. The catfish (*Rhamdia quelen*) is a species of fish native to the South and currently is distributed by American South and Central, considered a good biomarker in several studies in the area environment. This study aimed to evaluate the changes in reserves liver and muscle glycogen, lactate and plasma glucose catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to acute exposure to methyl parathion and tebuconazole. The Experiments were divided into two stages so that one stage to evaluate the effect agrochemicals acute (96 h) LC50 and phase 2 evaluated different periods recovery (45, 90, 135 and 180 days) on the metabolism of carbohydrates cited. The fish studied (n = 6) was divided into different groups T1 (control), T2 (agrochemicals), T3 (agrochemical and stress) and T4 (stress) under different conditions of presence and absence of pesticides and stress. Samples of liver and muscle were collected and analyzed concentrations of glycogen by the method of Van Handel. The blood samples collected were used to determine glucose and lactate. In animals exposed to methyl parathion were observed a reduction (p <0.05) of liver and muscle glycogen (T2 and T4) and plasma glucose (T2, T3, T4). Already plasma lactate increased in T2 and T4 in T3 while there was a reduction. During different periods of recovery and muscle glycogen glucose were restored. With tebuconazole liver glycogen and muscle, as well as, plasma glucose declined. However, there was an increase in lactate. In recovery phase only the liver glycogen was restored. From these results can be observed a greater sensitivity of the plasma metabolites effect of agrochemical and stress.

Keywords: Jundiá, *Rhamdia quelen*, methyl parathion, tebuconazole, agrochemical.



## **LISTA DE SIGLAS**

ANOVA - Análise da Variância

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

CL50 - Concentração Letal de 50% da população

EPA - Agência de Proteção Ambiental dos EUA

LFP - Laboratório de Fisiologia de Peixes

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NBR - Norma Brasileira

UPF - Universidade de Passo Fundo

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 – Jundiá ( <i>Rhamdia quelen</i> ).....	13
Figura 2 – Fórmula estrutural da Parationa Metílica.....	15
Figura 3 – Fórmula estrutural do tebuconazole.....	16
Figura 4 – Esquema demonstrativo das rotas metabólicas de carboidratos.....	16
Figura 5 – Coleta 45 dias, 90 dias, 135 dias e 180 dias.....	22
Tabela 1 – Fígado metil paration, na fase 1.....	24
Tabela 2 – Músculo metil paration, na fase 1.....	24
Tabela 3 – Glicose metil paration, na fase 1.....	26
Tabela 4 – Lactato metil paration, na fase 1.....	26
Tabela 5 – Fígado metil paration, na fase 2.....	28
Tabela 6 – Músculo metil paration, na fase 2.....	28
Tabela 7 – Glicose metil paration, na fase 2.....	29
Tabela 8 – Lactato metil paration, na fase 2.....	30
Tabela 9 – Fígado tebuconazole, na fase 1.....	30
Tabela 10 – Músculo tebuconazole, na fase 1.....	31
Tabela 11 – Glicose tebuconazole, na fase 1.....	32
Tabela 12 – Lactose tebuconazole, na fase 1.....	33
Tabela 13 – Fígado tebuconazole, na fase 2.....	34
Tabela 14 – Músculo tebuconazole, na fase 2.....	34
Tabela 15 – Glicose tebuconazole, na fase 2.....	35
Tabela 16 – Lactato tebuconazole, na fase 2.....	35

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
<b>2.1</b>	<b>O Bioindicadores</b> .....	12
<b>2.2</b>	<b>O uso de agroquímicos</b> .....	13
2.2.1	<i>Metil paration</i> .....	14
<b>2.3</b>	<b>Avaliação dos parâmetros metabólicos: Glicogênio, Glicose e Lactato</b> .....	16
<b>2.4</b>	<b>Objetivos</b> .....	19
2.4.1	<i>Objetivo geral</i> .....	19
2.4.2	<i>Objetivos específicos</i> .....	19
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTAL</b> .....	20
<b>3.1</b>	<b>Materiais</b> .....	20
<b>3.2</b>	<b>Metodologia</b> .....	20
3.2.1	<i>Aclimação laboratorial de Rhamdia quelen</i> .....	20
3.2.2	<i>Toxicidade aguda (fase 1)</i> .....	21
3.2.3	<i>Diferentes tempos de recuperação (fase 2)</i> .....	21
3.2.4	<i>Análises Bioquímicas</i> .....	22
3.2.5	<i>Estatística</i> .....	23
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	24
<b>4.1</b>	<b>Metil paration</b> .....	24
4.1.1	<i>Fase 1</i> .....	24
4.1.2	<i>Fase 2</i> .....	27
<b>4.2</b>	<b>Tebuconazole</b> .....	30
4.2.1	<i>Fase 1</i> .....	30
4.2.2	<i>Fase 2</i> .....	33
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	37
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	38

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de compostos químicos no combate à pragas de lavouras garantem uma maior produtividade, devido ao controle destes organismos indesejáveis. Esses compostos químicos são substâncias capazes de eliminar um organismo específico ou interferir de alguma maneira no controle deste (BAIRD, 2002). No entanto, a utilização em excesso destes compostos pode resultar em um desequilíbrio no meio ambiente (BAIRD, 2002). Este desequilíbrio é ainda maior quando ocorre tolerância por parte das pragas e doses maiores são necessárias para erradicá-las (PASCHOAL, 1979), o que resulta em um acúmulo na natureza que persiste por um longo tempo, contaminando os componentes bióticos, tais como peixes e abióticos como solo e outros. A Lei Federal nº. 7.802/89, regulamentada pelo Decreto 4.074/02, Artigo 2º, Inciso I, define o termo “agroquímicos” para os agroquímicos.

O uso de agroquímicos começou a se popularizar na segunda guerra mundial, com o uso do DDT, para a prevenção de tifo em soldados, aplicada diretamente na pele para o combate a piolhos. Posteriormente utilizado no controle de pragas na agricultura. Devido a ação eficiente e o baixo custo, este produto foi amplamente utilizado antes mesmo do conhecimento científico sobre os efeitos nocivos deste tóxico. O grande sucesso deste produto fez com que novos compostos ao combate das pragas fossem produzidos pela indústria o que intensificou a prática com uso de agroquímicos na agricultura (BULL & HATHAWAY, 1986).

Os agroquímicos metil paration e o tebuconazole foram e continuam sendo amplamente utilizados na região Sul do Brasil, pois garantem a produtividade econômica, entretanto podem resultar em impactos negativos devido à poluição sobre os recursos hídricos.

Segundo Machado Neto (1991), se o recurso hídrico estiver poluído por agroquímico, entende-se que todo o ecossistema será impactado, uma vez que a água está presente em todos os meios. Através das correntes de água ou por organismos aquáticos o agroquímico pode ser transportado e por consequência retornar a atmosfera com a volatilização, resultando em uma interação cíclica entre sedimento e água (NIMMO, 1985).

As atividades antrópicas que utilizam agroquímicos podem ocasionar impactos negativos, principalmente através da inalação, absorção cutânea entre outros, de modo que os principais efeitos são os biológicos sobre os alimentos contaminados a saúde humana (BAIRD, 2002).

Nos peixes, ocorre contaminação por via dérmica, brânquias e por ingestão oral (FANTA,1991). Devido à baixa degradação e/ou metabolização desses compostos, ocorre acúmulo no tecido adiposo dos animais e estes bioacumulam ao longo da cadeia alimentar, gerando um amplo impacto ambiental (D'AMATO et al., 2002; CHAGAS et al.,1998). É importante salientar que, mesmo que esses compostos fossem degradados ou metabolizados, não necessariamente haveria declínio dos impactos, pois subprodutos mais tóxicos podem ser formados. (WOLFE et al., 1990; MANSOUR et al., 1997).

As alterações detectadas em funções biológicas alteradas quando em contato com xenobióticos tais como agroquímicos, podem servir como bioindicadores de impacto ambiental (ARIAS et al., 2007). Xenobióticos são produtos químicos sem utilidade para o organismo, podendo ser danosos quando em contato excessivo (SMITH et al., 2007). Segundo Magalhães e Ferrão (2008) as análises químicas isoladas de amostras de água não revelam o impacto global causado pelo agente poluidor, pois não retratam as consequências sobre o ecossistema. Sendo assim, os sistemas biológicos (organismos ou parte deles) podem revelar os efeitos tóxicos de um determinado poluente, sendo bioindicadores de maior precisão.

Neste contexto, os peixes por pertencerem ao nível trófico superior do ambiente aquático, portanto, acumulam quantidades significativas de poluentes, o que justifica a importância destes organismos em testes de toxicidade (MÖLLERKE et al., 2003). Entretanto, algumas alterações metabólicas causadas pelos efeitos tóxicos podem ser corrigidas pelo organismo afetado, com normalização parcial ou total do marcador, como exemplo, a glicose com a passagem do tempo (SANCHO et al., 1998; BEGUM, 2004). Desta maneira, torna-se importante relacionar os efeitos tóxicos em diferentes tempos de recuperação após a exposição ao agroquímico.

O jundiá (*Rhamdia quelen*), por ser um peixe nativo da região Sul do Brasil, comum em açudes, presentes em propriedades onde ocorre o cultivo da soja e trigo, foi selecionado como bioindicador ambiental para este estudo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 O Bioindicadores

Seres vivos que demonstram prematuramente a presença de alterações bióticas e abióticas de um ambiente são chamados de bioindicadores. Essas alterações auxiliam a identificação de diversos tipos de modificações ambientais possibilitando seu controle antes que se intensifiquem, além de evidenciar como um elemento tóxico pode afetar um ecossistema (MÉRICO, 1997).

Bioindicadores apontam respostas a poluentes ambientais a nível individual, sendo medidos no organismo ou matriz biológica, para demonstrar uma alteração da situação normal, que não pode ser observada no organismo não impactado. Desta forma, os estudos com bioindicadores utilizam aferições feitas sobre o organismo completo, que indicam, em termos bioquímicos, celulares, fisiológicos, comportamentais ou energéticos, a presença de poluentes ou a gravidade da resposta do organismo alvo (LIVINGSTONE, 1993). Estas análises de parâmetros metabólicos de carboidratos possibilita elucidar se os animais estão ou não em suas condições fisiológicas normais em um ecossistema específico.

Dentre os principais bioindicadores utilizados, o jundiá (*Rhamdia quelen*) possui interesse comercial devido a excelente qualidade de sua carne o que torna importante estabelecer condições ideais de seu cultivo. Possui hábito alimentar omnívoro, o que pode facilitar o cultivo, pois aceita vários tipos de alimentos.

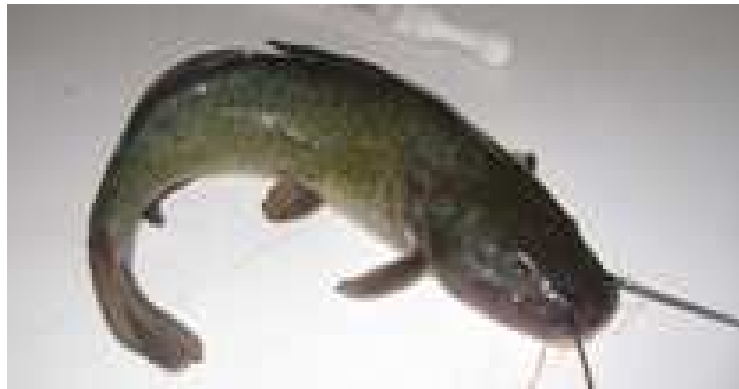
Conforme a classificação de espécie, o jundiá ocupa a seguinte classificação sistemática, classe: **Osteichthyes**, série: **Teleostei**, ordem: **Siluriformes**, família: **Pimelodidae**, gênero: **Rhamdia** e espécie: **Rhamdia quelen**.

Embora esta classificação seja bem deportada na literatura, as classificações desta espécie são bastante controversas, sendo família Pimelodidae citada por Silfvergrip (1996) e família heptapteridae por Gomes et al., (2000).

A espécie ocorre naturalmente no sul da América do Sul. É um peixe de água doce que vive em lagos, rios e seu cultivo em açudes vem aumentando no sul do Brasil (GOMES et al., 2000). O jundiá é um peixe endêmico da região Sul, facilmente encontrado no ambiente aquático próximo as lavouras rurais e possui boa aceitação no mercado consumidor (MARCHIORO; BALDISSEROTTO, 1999). Assim sendo, o jundiá

serve como bioindicador, utilizando o conhecimento do metabolismo energético para identificar possíveis alterações que revelem respostas a contaminações químicas dos agroquímicos metil paration e tebuconazole utilizados nas lavouras.

Figura 1 – Jundiá (*Rhamdia quelen*)



Fonte: <http://www.agrocomercio.com.br/site/piscicultura.php?peixe=13>.

## 2.2 O uso de agroquímicos

Os agroquímicos são amplamente utilizados na agricultura no combate a pragas de lavouras o que garantem uma maior produtividade. Entretanto estes compostos podem contaminar diretamente ou indiretamente as fontes de água, córregos, açudes, e mesmo lençóis freáticos. Com persistência no solo estes compostos podem ser lixiviados até os cursos de água ou serem evaporados para atmosfera e precipitados no ambiente aquático (PAN; DUTTA, 1998).

Segundo Fioreze et al., (2006) a contaminação direta resulta do despejo do agroquímico nas águas, e comumente ocorre por falhas na aplicação como aplicações nas margens de rios e córregos, principalmente quando se utiliza aplicação aérea (uso de aviões agrícolas). Outras formas de contaminação ambiental também são promovidas pelo descarte de embalagens vazias, pela água da “tríplice lavagem” dos recipientes, ou mesmo por produtos para o controle de plantas aquáticas, ou insetos predatórios. Enquanto que, a contaminação indireta ocorre quando o agroquímico é aplicado de forma adequada, porém, é transportado até açudes pela água da chuva, ou por lixiviação. Assim, ao entrar em contato com a água, os agroquímicos podem

contaminar organismos aquáticos e causar alterações significativas (FIOREZE et al., 2006). As alterações morfológicas são relatadas em diversos estudos na literatura. No estudo de Richmonds e Dutta (1989) com o peixe *Lepomis macrochirus* verificaram alterações no tecido branquial, após a exposição aguda ao organofosforado Malation, como, a presença de necrose das lamelas secundárias, edema, descolamento do epitélio e fusão de lamelas secundárias. No fígado do peixe *Brachydanio rerio* o organofosforado Dimetoato causou alterações a nível celular, como o desarranjo celular, núcleos picnóticos e necrose (RODRIGUES; FANTA, 1998). FANTA et al., (2003) também observaram alterações no tecido hepático de *Corydoras paleatus* exposto ao organofosforado metil paration, causando necrose, núcleos picnóticos, vacuolização e lateralização nuclear.

### 2.2.1 Metil paration

O metil paration ( $C_8H_{10}NO_5PS$ ) que recebe o nome químico de O, O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate é um organofosforado, pertencente à classe agronômica como inseticida e acaricida e é amplamente utilizado em lavouras e aquicultura. Segundo os fabricantes, o produto é recomendado para o controle do inseto “broca” (*Eutinobothrus brasiliensis*) sendo, por isso, extensivamente usado na agricultura brasileira (MACHADO; FANTA, 2003).

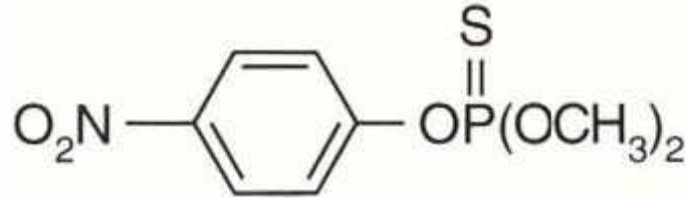
Esse composto pode atingir organismos não alvos, como pássaros, por não serem específicos para insetos (BAIRD, 2002). Segundo a ANVISA este agroquímico inibe as colinesterases e suas biotransformações geram o metabólito paraoxon que bioacumula e prolonga os efeitos tóxicos. A meia vida do metil paration no solo pode variar 1 à 18 dias e em ambiente aquoso este período foi estimado em 21 dias com pH 7 a 20 °C (IUPAC, 2012).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) classifica o metil paration com o número 027087 e recebe a Classificação Ambiental II que é considerado muito perigoso.

De acordo com a Resolução do CONAMA nº 357 para padrões de água doce o valor máximo do paration da CLASSE 1 e CLASSE 3 são (0,04 µg/L) e (35,0 µg/L) respectivamente.



Figura 2 – Fórmula estrutural da Parationa Metílica



Fonte: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d68e2100474596eb9f0cdf3fbc4c6735/p03.pdf?MOD=AJPERES>

O metil paration é comercializado em diversos países, no Brasil este produto estava no mercado como FOLIDOL 600 fabricado pela Bayer e como FOLISUPER 600 BR, fabricado pela Agripec.

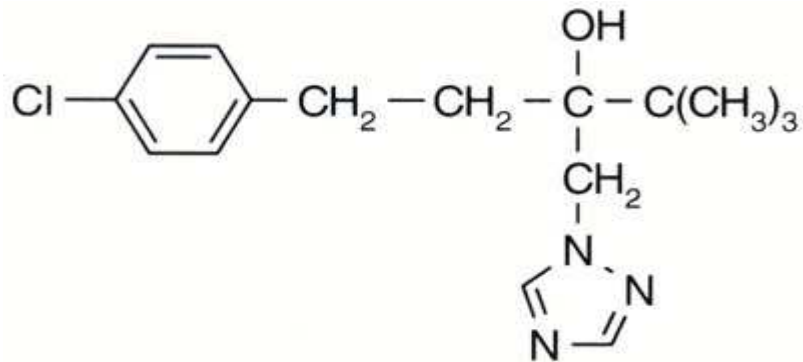
Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA), este produto está classificado como Agroquímico de Uso Restrito, pertencente a classe toxicológica dos compostos “extremamente tóxicos” (Classe I), podendo ser utilizados por aplicadores autorizados (EPA, 1999).

### 2.2.2 Tebuconazole

O fungicida tebuconazole ( $C_{16}H_{22}ClN_3O$ ) do grupo químico Triazol que recebe o nome químico de (RS)-1-p-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol é utilizado na agricultura e como preservante de madeira segundo a ANVISA (2012). O tebuconazole é largamente utilizado na região sul podendo ocorrer contaminação aquática e da fauna. A meia vida do tebuconazole no solo pode ser estimado em 365 dias e em ambiente aquoso este período foi estimado em 28 dias com pH 5 a 9 e 25 °C. Em pH 7 e a 20 °C é estável (IUPAC, 2012).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) classifica o tebuconazole que recebe o registro com o número 02895 com Classificação Ambiental II (Muito Perigoso) e Classificação toxicológica III (Mediamente Tóxico).

Figura 3 – Fórmula estrutural do tebuconazole

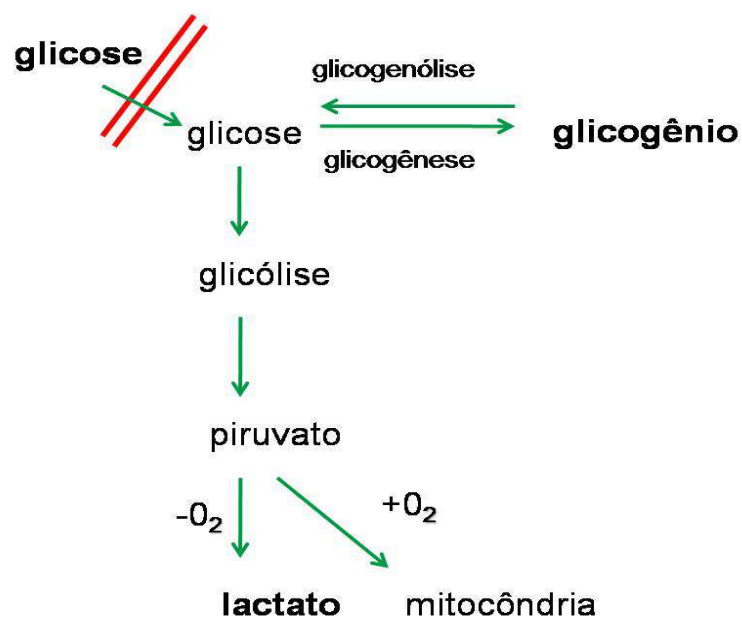


Fonte: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[11760-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[11760-1-0].PDF).

### 2.3 Avaliação dos parâmetros metabólicos: Glicogênio, Glicose e Lactato

A glicose é o principal combustível do metabolismo animal e pode ser armazenada na forma de glicogênio no fígado e nos músculos, destacando-se como um importante parâmetro no metabolismo dos organismos (LEHNINGER, 2002). Na figura 4 a seguir pode se verificar o Esquema demonstrativo das rotas metabólicas de carboidratos:

Figura 4 – Esquema demonstrativo das rotas metabólicas de carboidratos



Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Parâmetros metabólicos, como reservas de carboidratos (glicogênio, glicose e lactato) são usados com frequência como indicadores gerais de estresse fisiológico em peixes, estes parâmetros podem estar alterados nos tecidos e no sangue (LERMEN et al., 2004; BEGUM et al., 1999).

A glicose é um substrato energético que pode ser utilizado por todos os tecidos. O fígado é o primeiro tecido a extrair e utilizar a glicose para satisfazer as necessidades energéticas imediatas dos hepatócitos, o restante é armazenado na forma de glicogênio. A glicose proveniente do intestino e que não foi metabolizada pelo fígado, vai através do sangue, para os outros tecidos. O músculo pode utilizar glicose do sangue ou de suas próprias reservas de glicogênio que são relativamente altas. A glicólise é uma das principais rotas para a produção de energia, convertendo a glicose em lactato através da oxidação anaeróbia ou oxidando esta completamente através da oxidação aeróbia a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  (SMITH, 2007). A liberação de energia através da glicólise anaeróbia com altos níveis de lactato, pode servir como um parâmetro metabólico do estresse uma vez que o organismo tenta compensar o suprimento de energia.

“Uma situação de estresse ocorre quando se altera um fator ambiental ou quando um organismo encontra-se fora do seu nicho ecológico” (MAGALHÃES et al., 2008, p. 357). Sendo o estresse uma reação do organismo como resposta a um agente invasor na tentativa de escapar das adversidades e preservar a vida. Para Kreutz et al. (2008) e Fioreze et al. (2006), o estudo da contaminação de águas com doses sub-letais de agroquímicos, pode ser efetuado através da determinação da alteração de parâmetros orgânicos o que indicaria uma agressão ao organismo; entre os parâmetros avaliados estão diversos parâmetros hematológicos, níveis hormonais como os de cortisol e alterações celulares e teciduais.

O metabolismo pode ser alterado por influência endócrina e os danos oxidativos podem, paralelamente, afetar células de outros tecidos como o fígado e músculo, gerando impacto direto sobre seu metabolismo. O fígado é o tecido que metaboliza todas as drogas, reagindo primariamente a efeitos agudos causados por compostos tóxicos (SANCHO et al., 1998). Sendo um órgão essencial do metabolismo e dos processos de acumulação, biotransformação e desintoxicação de toxinas químicas (SUAREZ; MOMMSEN, 1987; PEIXOTO et al., 2006). Todavia, auxilia a regular os níveis de glicose plasmática, em situação de hiperglicemia, estocando a glicose na

forma de glicogênio. Na situação inversa de hipoglicemia, há a conversão do glicogênio em glicose para manter a homeostase do organismo (SMITH, 2007).

Através da gliconeogênese, moléculas de glicose podem ser formadas a partir de precursores como piruvato, lactato, glicerol e alguns aminoácidos (RAHAMI; ABDOLLAHI, 2007). O aumento nos níveis de lactato plasmático, muscular e hepático em frente a uma situação de estresse (físico/químico) para compensar as necessidades energéticas, que já foram demonstradas (BEGUM; VIJAYARAGHAVAN, 1999; CRESTANI et al., 2006; GLUSCZAK et al., 2006; FONSECA et al., 2008).

Entretanto, o músculo também altera seu metabolismo e mobiliza suas reservas frente a um agente estressor, quer seja de natureza física ou química. Por exemplo, piavas expostas ao herbicida glifosato apresentam um significativo aumento do glicogênio hepático e redução do glicogênio muscular. O decréscimo do glicogênio muscular pode indicar que o estresse causado pelo herbicida é acompanhado pela rápida degradação do glicogênio muscular (GLUSCZAK et al., 2007).

O aumento nos níveis de glicogênio no fígado e a diminuição no músculo de *Rhamdia quelen*, após exposição ao glifosato têm sido relatados (GLUSCZAK et al., 2007; MORAES et al., 2006). Desta maneira, os peixes expostos ao agente tóxico demonstram que usam o glicogênio muscular para compensar a situação de estresse químico (CRESTANI et al., 2006).

Entretanto, a resposta parece ser bem específica para cada espécie, como *Clarias batrachus*, que apresentou alterações nos níveis de glicogênio muscular quando expostos a organofosforados (BEGUM; VIJAYARAGHAVAN, 1999) e como em outros onde este efeito não foi observado como para a *Anguilla* que foi exposta à fenitrothion (SANCHO et al., 1997). Segundo Becker et al., (2009) os níveis de glicose plasmática diminuíram em Jundiás com o aumento da atividade antrópica resultado uso de agroquímicos. Estudos com Jundiás (*Ramdia quelen*) sugerem uma diminuição do hormônio cortisol quando expostos por 96 horas ao tebuconazole, o que reduz a capacidade de responder aos estressores comuns do seu ambiente (CERICATO et al., 2008). Segundo, Arias et al., (2007) a concentração e o tempo de exposição ao agroquímico também são fatores que interferem no comportamento, malformações, mudanças na taxa de crescimento, reprodução, alterações bioquímicas e fisiológicas.

## **2.4 Objetivos**

### *2.4.1 Objetivo Geral*

Avaliar o efeito do metil paration, do tebuconazole, do estresse e dos diferentes tempos de recuperação sobre as reservas de carboidratos em jundiás submetidos a 96 horas de exposição aguda.

### *2.4.2 Objetivos específicos*

- Verificar o impacto dos agroquímicos testados e/ou estresse sobre o metabolismo de carboidratos em jundiá, através da determinação da glicose e lactato sanguíneo;
- Determinar o impacto dos agroquímicos testados, estresse e do período de recuperação sobre o metabolismo de carboidratos em jundiá, através da determinação glicogênio hepático e muscular;
- Avaliar se os diferentes tempos de recuperação são suficientes para restabelecer as reservas do metabolismo de carboidratos.

## 3 EXPERIMENTAL

### 3.1 Materiais

No presente estudo, foram usadas as formulações comerciais do inseticida organofosforado metil paration (O, O-dimetil O-4-nitrofenil tiofosfato,  $C_8H_{10}NO_5PS$ ) e o fungicida tebuconazole do grupo químico Triazol (RS)-1-p-chlorophenyl-4,4-dimethyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol,  $C_{16}H_{22}ClN_3O$ .

### 3.2 Metodologia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia do Unilasalle em parceria com Laboratório de Fisiologia de Peixes (LFP) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo. O estudo foi dividido em duas fases. Fase 1 objetivou a avaliação dos efeitos dos agroquímicos sobre o metabolismo de carboidratos e a fase 2, a determinação da recuperação das alterações no metabolismo de carboidratos.

#### 3.2.1 Aclimação laboratorial de *Rhamdia quelen*

Os exemplares de *Rhamdia quelen* utilizados no experimento foram contaminados com os agroquímicos metil paration e tebucozanole para a determinação de reservas de carboidratos. Os peixes foram fornecidos pela Universidade de Passo Fundo com parecer favorável do Comitê de Ética da instituição. Estes animais foram aclimatados em tanques de polietileno com volume de 1000L, dotados de aeração e aquecimento independente.

As variáveis como o pH (phmetro digital Solar SL 110), temperatura, amônia total e nitritos (testes colorimétricos), oxigênio dissolvido (oxímetro digital YSI 550A), dureza e alcalinidade (testes colorimétrico), condutividade elétrica (condutímetro digital Bernauer) foram monitoradas para a avaliação da qualidade de água durante todo o período experimental. Os peixes foram alimentados uma vez ao dia, com ração comercial.

### 3.2.2 Toxicidade aguda (fase 1)

Após o período de aclimatação, os animais foram submetidos aos agroquímicos. Os animais utilizados apresentaram peso inicial médio de 9 g. Foi utilizada a concentração letal ( $CL_{50}$ ), que é considerada a concentração de um agente tóxico que causa mortalidade de 50% para os organismos testados. A  $CL_{50}$  utilizada neste estudo foi de 4,8 mg/L de metil paration e 5,3 mg/L de tebuconazole, conforme descrita por Kreutz et al (2008).

O tempo considerado como exposição aguda foi de 96 horas, conforme recomenda a norma da academia brasileira de normas técnicas (ABNT), NBR 15088:2004, para testes de toxicidade aguda com peixes.

Nas 95 horas de contaminação aguda com os agroquímicos foi aplicado o estressor agudo padrão de perseguição com puçá, já estabelecido como estressor agudo para espécie. Conforme mencionado, nas 96 horas de exposição, seis indivíduos de cada unidade experimental T1 (controle), T2 (agroquímico), T3 (agroquímico e estresse) e T4 (estresse) foram abatidos para análise e o restante dos animais permaneceram para a fase 2.

Os animais pertencentes ao grupo controle permaneceram nas mesmas condições abióticas e períodos de tempo, exceto pela ausência dos agroquímicos e estresse.

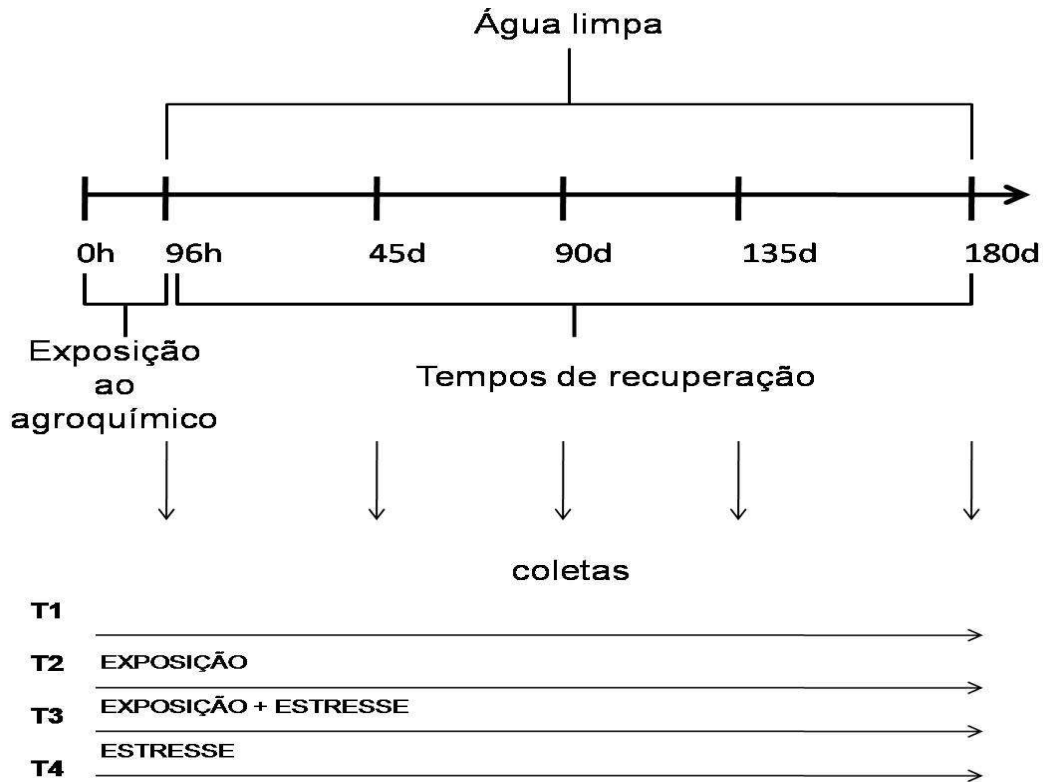
O descarte da água contaminada utilizada no presente estudo, foi realizado conforme descrito por Kreutz et al, (2008) permaneceu por um período de, pelo menos, 30 dias em tanques externos de fibra de vidro e depois percolada em sumidouro. Da mesma forma, todo o cuidado foi dispensado com o descarte de peixes abatidos, que foram congelados e descartados em coletores de lixo biológico, que são recolhidos por empresa especializada juntamente com o lixo hospitalar proveniente do Hospital Veterinário da Universidade de Passo Fundo.

### 3.2.3 Diferentes tempos de recuperação (fase 2)

O tempo total de recuperação foi de até 180 dias. Este tempo foi escolhido com base em dados zootécnicos da espécie (SILVA et al., 2008) e dados sobre

recuperação. As coletas foram realizadas nos tempos de 45 dias, 90 dias, 135 dias e 180 dias de recuperação.

Figura 5 – Coleta 45 dias, 90 dias, 135 dias e 180 dias



Fonte: Produzido pela autora, 2013.

### 3.2.4 Análises Bioquímicas

Para as determinações dos parâmetros bioquímicos foram usado um n=6 por tratamento (T1, T2,T3,T4), e também para os diferentes períodos de recuperação. Logo após a captura dos animais, estes, pesados e anestesiados (MS222 Finquel® 300 mg/L tamponado com 600 mg/L NaHCO<sub>3</sub>). Após a perda de postura, amostras de sangue foram coletadas do plexo caudal. Os peixes foram abatidos por secção medular e amostras de fígado e músculo foram coletadas e congeladas para análise posterior.

A determinação da glicose e lactato plasmático foram realizadas após o processamento do sangue usando o Kit comercial glicose (Labtest) e lactato (KATAL) expressas em mmol/L.

Após a coleta de material de tecido hepático e muscular as concentrações de glicogênio foram analisadas sendo o glicogênio quantificado como glicose, após



hidrólise ácida e neutralização, Este procedimento foi efetuado em todos os tratamentos e tempos de recuperação.

A extração de glicogênio segue o método de Van Handel (1965), onde o tecido foi pesado, colocado em tubos cônicos com KOH 30% e aquecido por 60 minutos à temperatura de 100 °C. Após a adição de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e de álcool etílico as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. O pellet formado foi lavado com água à 90°C e álcool etílico, sendo este procedimento repetido por 3 vezes. Posteriormente 500µL da diluição foi coletada em tubos de ensaio de 3mL e acrescentado 500µL de HCl 4N. As amostras foram aquecidas em banho-maria por aproximadamente 60 minutos à 100°C. Após resfriadas as amostras, 500 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2M foram acrescentados e homogeneizados. Em novos tubos foram coletados 10µL da mistura e adicionados 1mL do reagente de glicose (labtest), posteriormente aquecidos à 37°C por 15 minutos. A leitura do glicogênio foi realizada no espectrofotometro a 505nm.

### *3.2.5 Estatística*

As diferenças significativas  $p < 0,05$  foram determinadas através da análise de variância (ANOVA) one way seguido do teste de Tukey. Para analisar se os dados utilizados foram paramétricos o teste de Hartley e teste de Kolmogorov-Smirnov foram realizados para testar a normalidade dos dados. Todas as análises de dados foram realizadas utilizando Graph Pad InStat 3,00 pacote estatístico (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Metil Paration

#### 4.1.1 Fase 1

A análise bioquímica do tecido hepático e muscular nas 96h de intoxicação aguda mostrou uma redução da concentração de glicogênio no grupo T2 e muscular nos grupos T2 e T4, conforme mostrado nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Fígado metil paration, na fase 1

<b>FÍGADO METIL PARATION</b>	<b>96 horas</b>	<b>45 dias</b>	<b>90 dias</b>	<b>135 dias</b>	<b>180 dias</b>
<b>T1</b>	<b>99,21 ±27,17</b>	<b>151,89 ±22,10</b>	<b>125,46±24,70</b>	<b>107,38±15,29</b>	<b>97,58 ±19,50</b>
<b>T2</b>	49,76±15,20 <b>A</b>	89,54± 5,18 <b>A</b>	81,01±18,10	72,10±8,97	58,90±15,27
<b>T3</b>	<b>106,12±19,75</b>	<b>105,24±10,3 A</b>	<b>91,75±29,00</b>	<b>74,88± 15,55</b>	<b>90,99±11,33</b>
<b>T4</b>	134,2±47,16	120,75±11,02	131,99±32,77	78,4,±11,47	107,37±23,14

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Conforme a Tabela 1 o glicogênio (mmol/glicose/gtecido), é expresso como média ± S.E.M. Na figura, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Tabela 2 – Músculo metil paration, na fase 1

<b>MÚSCULO METIL PARATION</b>	<b>96 horas</b>	<b>45 dias</b>	<b>90 dias</b>	<b>135 dias</b>	<b>180 dias</b>
<b>T1</b>	<b>10,09±2,04</b>	<b>8,30±2,55</b>	<b>9,59±2,51</b>	<b>7,96±1,86</b>	<b>6,06±0,98</b>
<b>T2</b>	1,58±0,52 <b>A</b>	13,90±2,70	16,64±3,53	29,11±5,52 <b>A</b>	10,17±3,40
<b>T3</b>	<b>4,02±1,3</b>	<b>7,76±4,02</b>	<b>7,93±1,73</b>	<b>10,81±4,76</b>	<b>17,79±1,94 A</b>
<b>T4</b>	6,19±2,69 <b>A</b>	14,55±3,08	3,05±1,15	15,59±3,45 <b>a</b>	5,44±1,27

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 2 o glicogênio (mmol/glicose/gtecido), é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Na figura, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Essas alterações podem indicar que a contaminação por agroquímico, frente a este novo ambiente, promove uma rápida degradação de glicogênio, provavelmente para manter a demanda energética dos processos metabólicos e compensar a situação de estresse químico. Os resultados estão de acordo com a descrição de outros autores que observaram uma redução do glicogênio muscular após uma situação de estresse (CRESTANI et al., 2006; SANCHO et al., 1998; GLUSCZAK et al., 2006, 2007). Alguns autores relatam que para manter a demanda energética requerida em situação de estresse, o glicogênio é rapidamente catabolizado, resultando em grandes perdas do estoque energético (SANCHO et al., 1998; GIMENO et al., 1995).

No tecido hepático não foi observado redução do nível de glicogênio no tratamento T4 (Tabela1). Pode-se propor que ocorreu algum mecanismo compensatório no organismo do peixe para superar o estresse induzido, assim como um aumento do cortisol (hormônio relacionado com o metabolismo de carboidratos, liberado em situações de estresse) resultando no aumento da síntese de glicogênio. Em *Anguilla anguilla* exposta ao fenitrothion não foram observadas alterações nos estoques de glicogênio hepático e muscular (SANCHO et al., 1997). Estas alterações parecem ser específicas para as espécies, para os tóxicos e protocolos utilizados. Segundo Liew et al., (2012) em goldfish, o glicogênio hepático foi mantido em diversas condições de nado, mesmo no nado exaustivo e outras estratégias metabólicas foram mobilizadas, como a rota das proteínas no metabolismo aeróbico.

A seguir na Tabela 3 pode-se observar uma redução nos níveis de glicose plasmática em todos os tratamentos T2, T3 e T4 em relação ao grupo T1.

Tabela 3 – Glicose metil paration, na fase 1

<b>GLICOSE METIL PARATION</b>	<b>96 horas</b>	<b>45 dias</b>	<b>90 dias</b>	<b>135 dias</b>	<b>180 dias</b>
<b>T1</b>	<b>95,68 ±13,6</b>	<b>75,58±5,76</b>	<b>76,80±7,76</b>	<b>56,33±1,70</b>	<b>74,27±7,47</b>
T2	22,56±3,75 A	43,86±4,11 A	86,68±2,03	47,33±5,92	78,37±10,04
<b>T3</b>	<b>34,55±7,65 A</b>	<b>83,92±2,95</b>	<b>96,51±11,49</b>	<b>50,28,±4,06</b>	<b>71,03±6,05</b>
T4	27,68±6,69 A	94,20±9,19	111,08±13,10	73,75±9,51	88,03±7,04

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

A glicose plasmática (mmol/L), na Tabela 3 é expressa como média ± S.E.M. Na figura, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Outro autor também encontrou uma baixa concentração de glicose no plasma da mesma espécie estudada, resultado da alta atividade antrópica correlacionada com agroquímico, o que sugere uma desordem no metabolismo ou um alto consumo de glicose no processo metabólico (BECKER et al., 2009). As alterações nos níveis de glicose plasmática podem indicar mudanças no metabolismo dos carboidratos, assim como o aumento da glicogenólise no tecido hepático (Sancho et al., 1998).

O nível de lactato no plasma nos tratamentos T2 e T4 estão significativamente aumentados quando comparado ao grupo T1 (Tabela 4).

Tabela 4 – Lactato metil paration, na fase 1

<b>LACTATO METIL PARATION</b>	<b>96 horas</b>	<b>45 dias</b>	<b>90 dias</b>	<b>135 dias</b>	<b>180 dias</b>
<b>T1</b>	<b>1,74±0,03</b>	<b>2,88±0,28</b>	<b>4,90±0,71</b>	<b>7,05±1,42</b>	<b>8,33±0,15</b>
T2	2,48±0,11 A	1,84±0,60	3,99±1,20	7,93±0,89	7,41±1,21
<b>T3</b>	<b>1,09±0,04 A</b>	<b>8,47±0,46 A</b>	<b>6,53±1,11</b>	<b>4,60±0,96</b>	<b>9,96±0,55</b>
T4	3,31±0,22 A	8,41±0,84 A	5,78±1,24	5,60±0,47	8,34±0,90

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 4 o lactato plasmático (mmol/L), é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Na figura, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Esta elevação de lactato observada pode refletir uma rápida mobilização do metabolismo anaeróbico para manter o suporte energético, esta estratégia pode induzir uma acidose metabólica (HAMMER 1995). Nessa situação, o metabolismo anaeróbico vai estar ativado, favorecendo a produção de energia, como uma via mais rápida e o metabolismo aeróbico vai estar reduzido como observado em *Clarias batrachus* e *Cyprinus carpio* (Begum; Vijayaraghavan, 1999; Oruç; Uner, 1999). Liew et al., (2012) também encontrou um aumento do lactato plasmático o que parece ser fornecido pela rápida mobilização do glicogênio muscular.

Por outro lado, observamos uma redução do lactato no tratamento T3 (Tabela 4) com a associação do agroquímico mais o estresse podendo sugerir que a via aeróbica esta sendo utilizada, ou outra rota metabólica para síntese de glicose está sendo ativada.

#### 4.1.2 Fase 2

Encontramos na literatura muitos trabalhos sobre os efeitos bioquímicos de diversos agroquímicos em diferentes espécies de peixes. No entanto, informações relacionando ao tempo de exposição com diferentes períodos de recuperação estão insuficientes. Há trabalhos sobre recuperação envolvendo a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) como bioindicadora de toxicidade, e estes estudos sugerem que o tempo de recuperação está diretamente relacionado ao tipo de agroquímico, a espécie estudada, ao tempo de exposição e a concentração do tóxico, observado em *Anguilla anguilla* e *Paraty australiensis* (Sancho et al., 2000; Abdullah et al., 1994). Não há trabalhos utilizando os agroquímicos deste estudo seguindo os tempos de recuperação em jundiás *Rhamdia quelen*.

Em nosso estudo os diferentes períodos de recuperação não foram suficientes para restabelecer as reservas de glicogênio hepático conforme demonstrado a seguir (Tabela 5).

Tabela 5 – Fígado metil paration, na fase 2

FÍGADO METIL PARATION	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
<b>T1</b>	<b>99,21 ±27,17</b>	<b>151,89 ±22,10</b>	<b>125,46±24,70</b>	<b>107,38±15,29</b>	<b>97,58 ±19,50</b>
<b>T2</b>	49,76±15,20	89,54± 5,18	81,01±18,10	72,10±8,97	58,90±15,27
<b>T3</b>	<b>106,12±19,75</b>	<b>105,24±10,3</b>	<b>91,75±29,00</b>	<b>74,88± 15,55</b>	<b>90,99±11,33</b>
<b>T4</b>	134,2±47,16	120,75±11,02	131,99±32,77	78,4,±11,47	107,37±23,14

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Conforme Tabela 5 o glicogênio (mmol/glicose/gtecido), é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Nas figuras, o **a** minúsculo indica diferença estatística comparando os períodos de recuperação em relação ao grupo de 96h. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Begum (2004) na espécie *Clarias batrachus* observou que após a exposição ao carbofuran as reservas de glicogênio hepático, continuavam reduzidas nos três dias recuperação. Entretanto, Sancho et al., (1998) na espécie *Anguilla anguilla* observaram que com 192 horas de recuperação a maioria das desordens metabólicas já haviam sido restabelecidas, sugerindo que o tempo necessário para a recuperação depende dos fatores, como: agroquímico, espécie, tempo de exposição e recuperação.

A análise no tecido muscular das reservas de glicogênio (Tabela 6) demonstrou restabelecimento no tratamento T4 com 45 dias, no tratamento T2 com 90 dias e no tratamento T3 com 180 dias. Estes resultados indicam que os tempos foram suficientes para restabelecer e recuperar os estoques energéticos.

Tabela 6 – Músculo metil paration, na fase 2

MÚSCULO METIL PARATION	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
<b>T1</b>	<b>10,09±2,04</b>	<b>8,30±2,55</b>	<b>9,59±2,51</b>	<b>7,96±1,86</b>	<b>6,06±0,98</b>
<b>T2</b>	1,58±0,52	13,90±2,70	16,64±3,53 <b>a</b>	29,11±5,52 <b>a</b>	10,17±3,40
<b>T3</b>	<b>4,02±1,3</b>	<b>7,76±4,02</b>	<b>7,93±1,73</b>	<b>10,81±4,76</b>	<b>17,79±1,94 <b>a</b></b>
<b>T4</b>	6,19±2,69	14,55±3,08 <b>a</b>	3,05±1,15	15,59±3,45 <b>a</b>	5,44±1,27

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 6 o glicogênio (mmol/glicose/gtecido), é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Nas figuras, o **a** minúsculo indica diferença estatística comparando os períodos de recuperação em relação ao grupo de 96h. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

As concentrações de glicose plasmática conforme a Tabela 7 abaixo, foram restabelecidos: T3 e T4 com 45 dias e T2 com 90 dias de recuperação.. Demonstrando que as alterações metabólicas podem ser recuperadas após 90 dias em água sem o contaminante.

Tabela 7 – Glicose metil paration, na fase 2

<b>GLICOSE METIL PARATION</b>	<b>96 horas</b>	<b>45 dias</b>	<b>90 dias</b>	<b>135 dias</b>	<b>180 dias</b>
T1	<b>95,68 <math>\pm</math>13,8</b>	<b>75,58<math>\pm</math>5,76</b>	<b>76,80<math>\pm</math>7,76</b>	<b>56,33<math>\pm</math>1,70</b>	<b>74,27<math>\pm</math>7,47</b>
T2	22,56 $\pm$ 3,75	43,86 $\pm$ 4,11	86,68 $\pm$ 2,03 <b>a</b>	47,33 $\pm$ 5,92 <b>a</b>	78,37 $\pm$ 10,04 <b>a</b>
T3	<b>34,55<math>\pm</math>7,65</b>	<b>83,92<math>\pm</math>2,95 <b>a</b></b>	<b>96,51<math>\pm</math>11,49 <b>a</b></b>	<b>50,28,<math>\pm</math>4,06</b>	<b>71,03<math>\pm</math>6,05 <b>a</b></b>
T4	27,68 $\pm$ 6,69	94,20 $\pm$ 9,19 <b>a</b>	111,08 $\pm$ 13,10 <b>a</b>	73,75 $\pm$ 9,51 <b>a</b>	88,03 $\pm$ 7,04 <b>a</b>

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

A glicose plasmática (mmol/L), Tabela 7 é expressa como média  $\pm$  S.E.M. Na figura, o **a** minúsculo indica diferença estatística comparando os períodos de recuperação em relação ao grupo de 96h. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

No presente trabalho observou-se que as alterações da concentração de lactato plasmático retornaram a níveis normais nos seguintes tempos: T3 e T4 com 45 dias, e T2 com 135 dias de recuperação (Tabela 8). Indicando que a contaminação com o agroquímico requer um tempo maior para a normalização metabólica.

Tabela 8 – Lactato metil paration, na fase 2

LACTATO METIL PARATION	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
T1	1,74±0,03	2,88±0,28	4,90±0,71	7,05±1,42 a	8,33±0,15 a
T2	2,48±0,11	1,84±0,60	3,99±1,20	7,93±0,89 a	7,41±1,21 a
T3	1,09±0,04	8,47±0,46 a	6,53±1,11 a	4,60±0,96 a	9,96±0,55 a
T4	3,31±0,22	8,41±0,84 a	5,78±1,24	5,60±0,47	8,34±0,90 a

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 8 o lactato plasmático (mmol/L) é expresso como média ± S.E.M. Nas figuras, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Podemos observar neste estudo que a maioria das desordens metabólicas causadas pelo metil paration foram reversíveis em um período inferior ou igual a 180 dias de recuperação, com exceção do glicogênio hepático que não foi observado o restabelecimento das reservas. Esta alteração pode estar relacionada à função de detoxificação deste órgão e possivelmente ter produzido lesões patológicas.

## 4.2 Tebuconazole

### 4.2.1 Fase 1

As concentrações de glicogênio hepático (Tabela 9), e muscular (Tabela 10) demonstradas a seguir reduziram após a associação do estresse mais o agroquímico demonstrando perda nos estoques energéticos para suprir a energia requerida.

Tabela 9 – Fígado tebuconazole, na fase 1

FÍGADO TEBUCONAZOLE	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
T1	99,21 ±27,17	151,89±22,10	125,46±24,70	107,38±15,29	97,58 ±19,50
T2	56,09±11,30	122,72±11,0 A	94,71 ±16,62	165,46 ±9,86 A	122,84±13,54
T3	13,51 ±6,82 A	188,36±14,6 A	170,47±12,25 A	173,05±19,17 A	116,42±12,99
T4	134,2± 47,16	120,75±11,02	131,99±32,77 A	78,4±11,47	107,37±23,14

Fonte: Produzido pela autora, 2013.



O glicogênio (mmol/glicose/gtecido), na Tabela 9 é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Nas figuras, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Tabela 10 – Músculo tebuconazole, na fase 1

<b>MÚSCULO TEBUCONAZOLE</b>	<b>96 horas</b>	<b>45 dias</b>	<b>90 dias</b>	<b>135 dias</b>	<b>180 dias</b>
<b>T1</b>	<b>10,09<math>\pm</math>2,04</b>	<b>8,30<math>\pm</math>2,55</b>	<b>9,59<math>\pm</math>2,51</b>	<b>7,96<math>\pm</math>1,86</b>	<b>6,06<math>\pm</math>0,98</b>
<b>T2</b>	5,93 $\pm$ 1,08	13,35 $\pm$ 3,30	3,01 $\pm$ 1,37 <b>A</b>	10,90 $\pm$ 2,59	1,76 $\pm$ 0,45 <b>A</b>
<b>T3</b>	<b>4,24<math>\pm</math>1,19 <b>A</b></b>	<b>8,21<math>\pm</math>2,14</b>	<b>3,68<math>\pm</math>1,10</b>	<b>8,74<math>\pm</math>2,07</b>	<b>1,09<math>\pm</math>0,14 <b>A</b></b>
<b>T4</b>	6,19 $\pm$ 1,69	14,55 $\pm$ 3,08	3,05 $\pm$ 1,15 <b>A</b>	15,59 $\pm$ 3,45	5,44 $\pm$ 1,27

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 10 o glicogênio (mmol/glicose/gtecido), é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Nas figuras, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Estudos demonstram que as alterações no metabolismo de carboidratos e de proteínas têm ocorrido em peixes como *Rhamdia quelen*, *Leporinus obtusidens* e *Danio rerio* que estão em condição de estresse (CRESTANI et al., 2006; FONSECA et al., 2008; SANCHO et al., 2010). Outro autor também observou a redução de glicogênio muscular em *Rhamdia quelen* após o estresse tóxico (GUSCZAKET et al., 2007).

Nas 96 horas de exposição os níveis de glicose plasmática reduzem significativamente, nos grupos T2 e T3 mostradas a seguir na Tabela 11, o que indica que a glicose livre está sendo rapidamente utilizado, contrariando com os dados encontrados na literatura.

Tabela 11 – Glicose tebuconazole, na fase 1

<b>GLICOSE TEBUCONAZOLE</b>	<b>96 horas</b>	<b>45 dias</b>	<b>90 dias</b>	<b>135 dias</b>	<b>180 dias</b>
<b>T1</b>	<b>95,68 ±13,6</b>	<b>75,58±5,76</b>	<b>76,80±7,76</b>	<b>56,33±1,70</b>	<b>74,27±7,47</b>
<b>T2</b>	65,3±3,75 <b>A</b>	3,25±0,13 <b>A</b>	2,17±0,04 <b>A</b>	2,76±0,25 <b>A</b>	3,83±0,25 <b>A</b>
<b>T3</b>	<b>38,55±6,3 A</b>	<b>2,64±0,02 A</b>	<b>4,35±0,39 A</b>	<b>3,20±0,16 A</b>	<b>5,45±0,45 A</b>
<b>T4</b>	77,68±6,69	94,20±9,19	111,08±13,10	73,75±9,51	88,03±7,04

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 11 a glicose plasmática é expressa como média  $\pm$  S.E.M. Nas figuras, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Pois Sancho et al., (2010) observou um aumento dos níveis de glicose em *Danio rerio* submetido ao tebuconazole. Outro autor também observou um aumento de mobilização de glicose em zebrafish que está diretamente correlacionado com os níveis elevados de glicemia quando expostos ao tebuconazole, como uma estratégia fisiológica do metabolismo intermediário dos peixes contra o tóxico (HEATH, 1995). Porém, quando comparamos estes resultados com a literatura, encontramos que o zebrafish é menos sensível ao tebuconazole que outras espécies (TOMLIN, 1995). Sendo assim, as respostas metabólicas parecem ser bem específicas para cada espécie e para cada agroquímico envolvido o que explicaria os níveis diminuídos de glicose plasmática.

Por outro lado, a concentração de lactato plasmático aumenta em todos os tratamentos T2, T3 e T4 conforme a Tabela 12 a seguir:

Tabela 12 – Lactose tebuconazole, na fase 1

LACTATO TEBUCONAZOLE	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
<b>T1</b>	1,74±0,03	2,88±0,28	4,90±0,71	7,05±1,42	8,33±0,15
<b>T2</b>	2,42±0,14 <b>A</b>	6,31 ±0,14 <b>A</b>	4,41±0,34	5,96±0,66	1,32±0,09 <b>A</b>
<b>T3</b>	3,03±0,20 <b>A</b>	6,45±0,95 <b>A</b>	7,04±0,21 <b>A</b>	7,90±0,18	1,89±0,16 <b>A</b>
<b>T4</b>	3,31±0,22 <b>A</b>	8,41±0,84 <b>A</b>	5,78±1,24	5,60±0,89	8,34±1,21

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Segundo a Tabela 12 o lactato plasmático (mmol/L) é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Nas figuras, o **A** maiúsculo indica diferença estatística entre os tratamentos e grupo controle. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Este aumento da produção de lactato pode sugerir que outras rotas metabólicas estão sendo requisitadas para manter o suporte energético e corresponde a redução do nível de glicose plasmática encontrada, uma vez que a glicose estaria sendo utilizada na via anaeróbica. Em condições de hipóxia, o produto final da glicólise é o lactato e o aumento do lactato pode indicar que o organismo encontra-se em uma situação de estresse respiratório, observado em *Clarias batrachus* e na mesma espécie de estudo (BEGUM; VIJAYARAGHAVAN, 1999; CRESTANI et al., 2006).

#### 4.2.2 Fase 2

O restabelecimento das reservas hepáticas (Tabela 13) ocorre aos 45 dias nos tratamentos T3 e T4. Porém as reservas de glicogênio muscular (Tabela 14), não se restabelecem durante os 180 dias de recuperação, o que pode indicar que a exposição a este agroquímico requer um tempo maior de recuperação, uma vez que pode ter provocado um dano maior ao organismo do peixe.

Tabela 13 – Fígado tebuconazole, na fase 2

<i>FÍGADO TEBUCONAZOLE</i>	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
<b>T1</b>	99,21 ±27,17	151,89±22,10	125,46±24,70	107,38±15,29	97,58 ±19,50
<b>T2</b>	56,09±11,30	122,72±11,0 a	94,71 ±16,62	165,46 ±9,86	122,84±13,54
<b>T3</b>	13,51 ±6,82	188,36±14,6 a	170,47±12,25 a	173,05±19,17 a	116,42±12,99 a
<b>T4</b>	134,2± 47,16	120,75±11,02 a	131,99±32,77	78,4±11,47	107,37±23,14

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 13 o glicogênio (mmol/glicose/gtecido), é expresso como média ± S.E.M. Nas figuras, o **a** minúsculo indica diferença estatística comparando os períodos de recuperação em relação ao grupo de 96h. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P<0.05$ ,  $n=6$ ).

Tabela 14 – Músculo tebuconazole, na fase 2

<i>MÚSCULO TEBUCONAZOLE</i>	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
<b>T1</b>	10,09±2,04	8,30±2,55	9,59±2,51	7,96±1,86	6,06±0,98
<b>T2</b>	5,93±1,08	13,35±3,30	3,01±1,37	10,90±2,59	1,76±0,45
<b>T3</b>	4,24±1,19	8,21±2,14	3,68±1,10	8,74±2,07	1,09±0,14
<b>T4</b>	6,19±1,69	14,55±3,08	3,05±1,15	15,59±3,45	5,44±1,27

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Conforme Tabela 14 o glicogênio (mmol/glicose/gtecido), é expresso como média ± S.E.M. Nas figuras, o **a** minúsculo indica diferença estatística comparando os períodos de recuperação em relação ao grupo de 96h. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P<0.05$ ,  $n=6$ ).

Nos período de recuperação 45, 90, 135 e 180 dias ocorreu um decréscimo significativo nos níveis de glicose plasmática para os tratamentos T2 e T3 nos tempos de 90 e 180 dias (Tabela 15).

Tabela 15 – Glicose tebuconazole, na fase 2

<i>GLICOSE TEBUCONAZOLE</i>	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
<b>T1</b>	<b>95,68 ±13,6</b>	<b>75,58±5,76</b>	<b>76,80±7,76</b>	<b>56,33±1,70 a</b>	<b>74,27±7,47</b>
<b>T2</b>	65,3±3,75	3,25±0,13 a	2,17±0,04 a	2,76±0,25 a	3,83±0,25 a
<b>T3</b>	<b>38,55±6,3</b>	<b>2,64±0,02</b>	<b>4,35±0,39 a</b>	<b>3,20±0,16</b>	<b>5,45±0,45 a</b>
<b>T4</b>	77,68±6,69	94,20±9,19	111,08±13,10 a	73,75±9,51	88,03±7,04 a

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Tabela 15 - A glicose plasmática (mmol/L) é expressa como média ± S.E.M. Na figura, o **a** minúsculo indica diferença estatística comparando os períodos de recuperação em relação ao grupo de 96h. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

Esses resultados ocorrem provavelmente por uma ação mais prolongada dos efeitos do agente tóxico. Períodos maiores de tempo livre do agroquímico seriam necessários para avaliar esse parâmetro, uma vez que os resultados indicam que a glicose plasmática continuou reduzida e alterada mesmo após 180 dias. Esta redução sugere uma maior persistência da desordem metabólica resultando em uma maior utilização da glicose para garantir a homeostase. Entretanto, no tratamento T4 observamos um aumento significativo da glicose nos tempos de 90 e 180 dias, demonstrando uma mobilização das reservas de energia.

Por outro lado, o nível do lactato no plasma aumenta após 45 dias de recuperação para os tratamentos T2, T3 e T4 (Tabela 16).

Tabela 16 – Lactato tebuconazole, na fase 2

<i>LACTATO TEBUCONAZOLE</i>	96 horas	45 dias	90 dias	135 dias	180 dias
<b>T1</b>	1,74±0,03	<b>2,88±0,28</b>	<b>4,90±0,71</b>	<b>7,05±1,42 a</b>	<b>8,33±0,15</b>
<b>T2</b>	2,42±0,14	6,31 ±0,14 a	4,41±0,34 a	5,96±0,66 a	1,32±0,09
<b>T3</b>	<b>3,03±0,20</b>	<b>6,45±0,95 a</b>	<b>7,04±0,21 a</b>	<b>7,90±0,18 a</b>	<b>1,89±0,16</b>
<b>T4</b>	3,31±0,22	8,41±0,84	5,78±1,24	5,60±0,89	8,34±1,21 a

Fonte: Produzido pela autora, 2013.

Na Tabela 16 o lactato plasmático (mmol/L), é expresso como média  $\pm$  S.E.M. Na figura, o **a** minúsculo indica diferença estatística comparando os períodos de recuperação em relação ao grupo de 96h. ANOVA, seguido por vários testes de Tukey ( $P < 0.05$ ,  $n=6$ ).

O aumento de lactato persiste durante os tempos de recuperação o que pode estar diretamente correlacionado com a depleção das reservas de glicogênio muscular observada até os 180 dias de recuperação e até mesmo com a redução da glicose nos diferentes tempos de recuperação. A via anaeróbica estaria sendo favorecida para garantir um suporte mais rápido de energia. Da mesma forma, que esta via pode estar sendo utilizada como resultado da hipóxia muscular induzida pela ação do agroquímico, o que explicaria também o aumento do lactato. Encontramos na literatura estudos que sugerem esta estratégia utilizada por diferentes espécies de peixes expostos a agentes tóxicos (VERMA et al., 1983; GILL et al., 1991; JYOTHI; NARAYAN, 1999; ORUÇ; ÜNER, 1999).

Os resultados obtidos permitem observar que o tebuconazole altera o metabolismo de carboidratos desta espécie de peixe estudada, assim como o metil paration. Na exposição ao tebuconazole não observamos a recuperação das reservas de glicogênio muscular nos 180 dias de água livre de agroquímico, sugerindo a mobilização desta fonte energética contra o possível estresse químico causado pela exposição. O decréscimo na glicose e aumento do lactato também fazem parte do mesmo mecanismo na tentativa de manter o suporte energético. Da maneira similar, observamos uma depleção das reservas de glicogênio hepático com a exposição e após a exposição ao metil paration (VERMA et al., 1983; GILL et al., 1991; JYOTHI; NARAYAN, 1999; ORUÇ; ÜNER, 1999).

Os 180 dias de recuperação não foram suficientes para a normalização dos estoques de glicogênio hepático, o que pode ser justificado pela função de detoxificação deste órgão. Sabe-se que o principal tecido para a síntese de glicogênio e armazenamento é o fígado, sendo também o mais importante centro metabólico para a desintoxicação de substâncias químicas em teleósteos (SINGH; BHATI, 1994). O glicogênio hepático é uma das fontes de glicose e contribui para regular os níveis de glicose no sangue (SUAREZ; MOMMENSEN, 1987). Essas alterações prolongadas que persistiram nos diferentes períodos de recuperação, sugerem que os efeitos tóxicos podem ser observados mesmo após 180 dias em água sem o contaminante.

## 4 CONCLUSÕES

- Houve uma redução do glicogênio hepático e muscular após a contaminação ao metil paration e ao tebuconazole.
- A associação do estresse + tebuco reduz glicogênio hepático e muscular.
- Foi encontrada também uma diminuição na glicose plasmática em todos os tratamentos e um aumento do lactato plasmático. Indicando uma resposta secundária causada pela ação dos agroquímicos e do estresse. Rotas anaeróbias foram utilizadas como mecanismo compensatório na tentativa de aumentar a energia e manter a homeostase.
- Durante os diferentes tempos de recuperação ao agroquímico metil paration, os níveis de glicogênio muscular e de glicose plasmática retornaram ao inicial, o que indica que o tempo de 180 dias de recuperação foi suficiente para restabelecer as reservas dos intermediários metabólicos.
- Os 180 dias de recuperação não foram suficientes para restabelecer as reservas de glicogênio muscular, após a contaminação aguda ao tebuconazole, indicando uma maior sensibilidade a este agente químico.
- Estes resultados fortalecem a ação específica de cada agroquímico, através das respostas encontradas nos diferentes tempos de recuperação. Onde os tempos de recuperação foram suficientes frente à intoxicação com o metil paration. Entretanto, para o tebuconazole este tempo de recuperação não foi suficiente.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, S. K.; ABBAS, B. A. 1994. **Occurrence of thermophilic and thermotolerant fungi in aquatic sediments of Shatt Al-Arab River and its creeks at Basrah, Iraq.** *Marina Mesopotamica* 9:39-47.
- ANDREU-SÁNCHEZ, Oscar et al. Acute toxicity bioconcentration of fungicide tebuconazole in zebrafish (*Daniorerio*). **Environmental Toxicology**, DOI 10.1002/tox, 2010.
- ANVISA. Ministério da Saúde. **Nota técnica de reavaliação toxicológica do ingrediente ativo da parationa metílica.** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/03f108049e63087b45ab66dcbd9c63c/Paration+Metilico.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 12 nov. de 2012.
- ANVISA. Ministério da Saúde. **Regulamento técnico Tebuconazole.** Disponível em: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[11760-1-0\]PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[11760-1-0]PDF). Acesso em: 12 nov. 2012.
- ARIAS, Ana Rosa Linde et al. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agroquímico. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.12, p.61-72, 2007.
- BAIRD, Colin. **Química ambiental.** 2. ed. Porto Alegre, RS: Bookman, 2002.
- BARCELLOS, Leonardo. J. G. et al. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American Catfish. **Aquacultura Research**, v.32, p.123-125, 2001.
- BARCELLOS, Leonardo. J. G. et al. Steroid profiles of cultured female jundiá, the Silurida e *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pisces, Teleostei) during the first reproductive cycle. **General and Comparative Endocrinology**, v.121, p.325-332, 2001.
- BARCELLOS, Leonardo. J. G. et al. Plasma steroid concentrations in relation to the reproductive cycle of cultured male *Rhamdia quelen*. **Journal of Fish Biology**, v.61, p.751-763, 2002.
- BARCELLOS, Leonardo, J. G. et al. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard *Pimelodidae*) and hormonal and biochemical changes after acute stress. **Aquacultura Research**, v.34, p.1465-1469, 2003.
- BARCELLOS, Leonardo, J. G. et al. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v.232, p.383-394, 2004.



BARCELLOS, Leonardo, J. G. et al. Hematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard *Pimelodidae*) provoked by usual aquaculture practices, with emphasis on immunosuppressive effects. **Aquaculture**, v.237, p. 229-236, 2004.

BARCELLOS, Leonardo, J. G. et al. Previous chronic stress does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard) fingerlings. **Aquaculture**, v.253, p.317-321, 2006.

BARCELLOS, Leonardo, J. G. et al. The effect of color illumination on jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard, *Heptapteridae*) stress response. **Ciência Rural**, v.36, p.1249-1252, 2006.

BARCELLOS, Leonardo, J. G. et al. Influence of color background and shelter availability on jundiá (*Rhamdia quelen*) stress response. **Aquaculture**, v.288, p.51-56, 2009.

BARTON, B. A.; Iwama G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, v.10, p.3-26, 1991.

BECKER, A. G. et al. Pesticide Contamination of water alters the metabolism of juvenile silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.1734-1739, 2009.

BEGUM, G.; VIJAYARAGHAVAN, S. Effect of acute exposure of the organophosphate insecticide rogor on some biochemical aspects of *Clarias batrachus* (Linnaeus). **Environmental Research**, v. 80, p.80-83, 1999.

BEGUM, G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (Linn) and recovery response. **Aquatic Toxicology**, v. 66, p. 83-92, 2004.

BULL D; HATHAWAY D. **Pragas e Venenos: Agroquímicos no Brasil e no Terceiro Mundo**. Petrópolis: Vozes/OXFAM/FASE, 1986.

CERICATO, Leonardo et al. Cortisol response to acute stress in jundiá *Rhamdia quelen* acutely exposed to sublethal concentrations of agrichemicals. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part C, v.148, p. 281–286, 2008.

CERICATO, Leonardo et al. Responsiveness of the interrenal tissue of Jundiá (*Rhamdia quelen*) to an in vivo ACTH test following acute exposure to sublethal concentrations of agrichemicals. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v.149, p. 363–367, 2009.

CHAGAS, C. M. et al. Determinação de resíduos de organoclorados em águas fluviais do município de Viçosa – MG. **Química Nova**, v.22, p. 506-508, 1998.

CRESTANI, M. et al. Effects of clomazone herbicide on hematological and some parameters of protein and carbohydrate metabolism of silver catfish *Rhamdia quelen*.

**Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.65, p. 48-55, 2006.

D'AMATO, C et al. DDT (DicloroDifenilTricloroetano): Toxicidade e contaminação ambiental – Uma revisão. **Química Nova**, v.25, p. 995-1002, 2002.

DEVLIN, Thomas M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 6. ed. São Paulo, SP: Bücher, 2007.

EPA. **Pesticide assessment guidelines**. Subdivision M: microbial pest control agents and biochemical pest control agents. Washington, p. 192, 1992.

FANTA, E. Ação de poluentes sobre o tecido. In: Heid Sueli Leme dos Santos. **Histologia de peixes**. Jáboticabal: FUNEP, p. 80, 1991.

FANTA, E.; RIOS, F. S.; VIANNA, A. C. C.; ROMÃO, S.; FREIBERGER, S. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water, and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Orlando, v. 54, p. 119–130, 2003.

FIOREZE, I. et al. Instalações para o policultivo. In: Barcellos, L. J. G. (ed.). **Policultivo de Jundiás, Tilápias e Carpas**: uma alternativa para a piscicultura Rio-grandense. ed. UPF. Passo Fundo, RS: v.1, p.127, 2006.

FONSECA, M. et al. 2,4-D herbicide effects on acetyl cholinesterase activity and metabolic parameters of piava freshwater fish (*Leporinus obtusidens*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.69, p. 416-420, 2008.

GHOSH, T.K. Impact of grade hexagor and sumidon on behavior and some aspects of carbohydrate metabolism in fish *Cyprinus carpio* . **Uttar Pradesh Journal of Zoology**, v.7, p. 48-62, 1987.

GILL, T.; PANDE, J.; TEWARI, H. In vivo and in vitro effects of cadmium on selected enzymes in different organs of the fish *Barbus conchonus* (Rosy barb), **Comp Biochem Physiol**, v. 100, p. 501–506, 1991.

GLUSCZAK, Lissandra et al. Effect of glyphosate herbicide on acetyl cholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.65, p. 237-241, 2006.

GLUSCZAK, Lissandra et al. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part C, v.146, p. 519–524, 2007.

GOMES, L. et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30A, p. 179–185, 2000.

HAMMER, Cornelius. Fatigue and exercise tests with fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v.112, p.1–20, 1995.

HEATH, A. et al. Sublethal effects of three pesticides on Japanese medaka. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.25, p. 485-491, 1993.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology**. 2. ed. Boca Raton: Lewis Publishers CRC Press, p.359, 1995.

HORI, Tiago.S.F. et al. Impairment of the stress response in matrinxã juveniles (*Bryconamazonicus*) exposed to low concentrations of phenol. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.147, p. 416–423, 2008.

IUPAC – **The international Union of Pure and Applied Chemistry** – Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/507.htm>>. Acesso em: 2 abril de 2012.

IUPAC – **The international Union of Pure and Applied Chemistry** – Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/610.htm>>. Acesso em: 2 abril de 2012.

JYOTHI, B.; NARAYAN, G. Certain pesticide-induced carbohydrate metabolic disorders in the serum of freshwater fish *Clarias batrachus* (Linn.). **Food Chem Toxicol**, v. 37, p. 417-421, 1999.

KREUTZ, Luis Carlos et al. Investigation of acute toxicity of pesticides on jundiá (*Rhamdia quelen*), a South American catfish. **Ciência Rural**, v.38, p. 1050-1055, 2008.

LERMEN, Carine Luisa et al. Effects of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 239, p. 497-507, 2004.

LIEW, Hon J. et al. Fasting goldfish, *Carassius auratus*, and common carp, *Cyprinus carpio*, use different metabolic strategies when swimming. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v.163, p. 327-335, 2012.

LIVINGSTONE, David. R. Biotechnology and pollution monitoring: Use of molecular biomarker in the aquatic environment. **Journal of Chemical Technology Biotechnology**. v. 57, p. 195-211, 1993.

LEHNINGER. **Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002, 976 p.

MACHADO NETO, J. G.. Ecotoxicologia de agroquímicos. Jaboticabal, **FUNEP**, p. 491, 1991.

MACHADO, M. R.; FANTA, E.. Effects of the organophosphorus methyl parathion on branchial epithelium of freshwater fish *Metynnis roosevelti*. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 46, p. 361-372, 2003.

MAGALHÃES, D. P.; FERRAO FILHO, A. S.. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecol. Bras**, v.12, p. 355-381, 2008.

MANSOUR, M. et al. Experimental approaches to studying the photostability of selected pesticides in water and soil. **Chemosphere** v.35, p.39-50, 1997.

MARCHIORO, M. I.; BALDISSEROTTO, B. Sobrevivência de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard, 1824) à variação de salinidade da água. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n.2, p. 315-318, 1999.

MERICO, L. F. K. (1997). Proposta metodológica de avaliação do desenvolvimento econômico na região do Vale do Itajaí (SC) através de indicadores ambientais. **Revista Dynamis**, v. 5, n.19, p. 59-67, abr/jun, Blumenau, FURB.

MILLER, L. L. et al. Effects of acute and subchronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indicators in juvenile rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v. 83, p. 263-271, 2007.

MIRON, Denise dos Santos et al. Biochemical effects of clomazone herbicide on piava (*Leporinus obtusidens*). **Chemosphere**, v.74, p.1–5. 2008.

MÖLLERKE, Roseli O. et al. Níveis de arsênio total como indicador biológico, na avaliação da qualidade do pescado (*Leporinus obtusidens* e *Pimelodus maculatus*) do lago Guaíba em Porto Alegre RS-Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62, p.117-121, 2003.

MORAES, B. et al. Efeito da Exposição Aguda ao Herbicida Roundup sobre Parâmetros Metabólicos em Jundiás (*Rhamdia quelen*). **Anais Fesbe**, 2006.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Lehninger** – Princípios de Bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NIMMO, D. R. Pesticides. In: Rand, G. M.; Petrocelli, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. New York: Hemisphere, p. 335-373, 1985.

Norma Brasileira NBR 15088:2004. **Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes**. Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

ORUÇ, E. O.; UNER, N. Effects of 2,4 Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolism in the serum, muscle and liver of cyprinus carpio. **Environmental Pollution**, v.105, p. 267-272, 1999.

PAN, G.; DUTTA, H. M. The inhibition of Brain Acetylcholinesterase Activity of Juvenile Largemouth Bass *Micropterus salmoides* by Sublethal **Concentrations of Diazinon**. **Environ Res**, v. 79, p. 133-137, 1998.

PASCHOAL Adilson D. **Pragas, Praguicidas e a Crise Ambiental: problemas e soluções**. Rio de Janeiro, Ed. FGV. p. 102. 1979.

PEIXOTO, F. et al. Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.85, p. 91-96, 2006.

- RAHAMI, R.; ABDOLLAHI, M. A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.88, p.115-121, 2007.
- RICHMONDS, C. R.; DUTTA, H. M. Histopathological changes induced by malathion in the gills of buegill *Lepomis macrochirus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology Comparative Biochemistry and Physiology C Comparative Pharmacology and Toxicology**, New York, v.43, p. 123-130, 1989.
- RODRIGUES, E. L.; FANTA, E. Liver histopathology of fish *Brachydanio rerio* Hamilton-Buchman after acute exposure to sublethal levels of the organophosphorate Dimethoate 500. **Revista Brasileira de Zoologia** Curitiba, v.15, n. 2, p. 441-450,1998.
- SANCHO, E. et al. Organophosphorus diazinon induced toxicity in the fish *Anguilla anguilla*L. **Comparative Biochemistry and Physiology Parte C: Comparative Pharmacology**, v.103, p. 351-356, 1992.
- SANCHO, E. et al. Sublethal effects of an organophosphate insecticide on the European eel, *Anguilla anguilla*. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.36, p. 57-65, 1997.
- SANCHO, E. et al. Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to fenitrothion. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.41, p. 168-175, 1998.
- SANCHO, E. et al. Cholinesterase activity and hematological parameters as biomarkers of sublethalmolinate exposure in *Anguilla anguilla*. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v.46, p. 81-86, 2000.
- SANCHO, E.; VILLARROEL, M. J.; FERNANDEZ, C.; ANDREU, E.; FERRANDO, M. D. Short-term exposure to sublethal tebuconazole induces physiological impairment in male zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicol and Environ Safety**, v.73. p. 370–376. 2010.
- SINGH, S.; BHATI, D. P. Evolution of liver protein due to stress under 2,4-D intoxication in *channa punctatus*, **Bull. Environ. Contam Toxicol**, v.53, p. 149-152, 1994.
- SILFVERGRIP, A. M. C. (1996). **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. PhD (Thesis) – Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden, p.156.
- SILVA, L. B. et al. Alternative species for traditional carp polyculture in southern South America: initial growing period. **Aquaculture**, v.255, p. 417-428, 2006.
- SILVA, L. B. et al. Introduction of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) and Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) increases the productivity of carp polyculture in southern Brazil. **Aquaculture Research**, v.39, p. 542-551, 2008.

SMITH, Collen. **Bioquímica medica básica de MarKs**. 2. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2007.

SUAREZ, R. K.; MOMMENSEN, T. P. Gluconeogenesis in teleost fishes, **Journal of Zoology**, v.65, p.1869–1882, 1987.

TOMLIN, C. **The pesticide manual – a word compendium**. 10. ed. Local: Crop Protection Publication, 1995. p.1606

VAN HANDEL, E. Estimation of glycogen in small amount of soft tissue. **Analytical Biochemistry**, v.11, p. 256-265, 1965.

VERMA, S.R.; RANI, S.; TONK, P. I.; DALELA, R.C. Pesticide induced dysfunction in carbohydrate metabolism in three freshwater fishes. **Environ Res**, v. 32, p. 127–133, 1983.

WOLFE, N. L. et al. Abiotic Transformations in water, sediments and soil. In: Cheng, H.H. (ed.) **Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modeling**. 2. ed. Madison: Soil Science Society of America. p. 103-168, 1990.